

LEITUNGSBLOCKS UND DEPRESSION DER
SYNAPTISCHEN ÜBERTRAGUNG BEI
REPETITIVER REIZUNG AN KREBSMUSKELN

Hanns Hatt

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

LEITUNGSBLOCKS UND DEPRESSION DER
SYNAPTISCHEN ÜBERTRAGUNG BEI REPETITIVER REIZUNG
AN KREESMUSKELN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt
von
Hanns Hatt
aus Dillingen (D)

München 1976



1. Berichterstatter: Prof. Dr. Autrum
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Druckmoser
Tag der mündlichen Prüfung: 11.8.1976

Inhaltsverzeichnis	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. MATERIAL UND METHODEN	4
C. ERGEBNISSE	6
I. Postsynaptische Antwort auf langdauernde repetitive Reize	6
II. Fehlende Aktionspotentialfortleitung in die Nervenendigungen	8
Axonleitungsblocks	8
Extrazelluläre Nervenendigungspotentiale	12
Synaptische Verzögerung	18
Wirkung einer Reizpause	20
III. Überträgerstofffreisetzung während Leitungsblocks	20
Depression der Überträgerstoffausschüttung	24
Spontane Quantenfreisetzung	27
Amplitude der ENTPs	28
IV. Leitungsblock im Hauptast des Axons	28
Ausfall der Impulsfortleitung in einer Gegend mit dichtem Bindegewebe	34
Abnehmende Axonleitungsgeschwindigkeit	37
V. Nervenentladungsrate im lebenden Tier	38
D. DISKUSSION	
I. Postsynaptische Antwort auf langdauernde repetitive Reizung	41
II. Präsynaptische Antwort auf langdauernde repetitive Reizung	41
Axonleitungsblock im Gelenk	41
Axonleitungsblock in der Peripherie	43
III. Änderung in der Statistik der Überträgerstofffreisetzung	45
Spontan freigesetzter Überträgerstoff	47
IV. Andere Interpretationen der Depression	48
Nervenendigungsdepolarisation	49
Z u s a m m e n f a s s u n g	50
E. LITERATURVERZEICHNIS	52

A. EINLEITUNG

Während repetitiver Reizung eines präsynaptischen Neurons kann man oft beobachten, daß sich anfänglich die Amplitude der postsynaptischen Antwort erhöht, dann aber auf ein Niveau abfällt, das deutlich unter dem Ausgangswert liegt. Diese Bahnung im frühen Stadium, gefolgt von der Depression, wurde bereits für die neuromuskuläre Endigung des Krebses (Dudel and Kuffler, 1961b), des Frosches (del Castillo and Katz 1954b; Betz, 1970), des Frosches und der Ratte (Lundberg and Quilisch, 1953; Otsuka, Endo and Nonomura, 1962), des Meer-schweinchens (Thies, 1965) und des Menschen (Elmqvist and Quastel, 1965) beschrieben, ebenso für zentrale Ganglien der *Aplysia* (Bruner and Kehoe, 1970) und für α -Motoneurone der Katze (Curtis and Eccles, 1960; Kuno, 1964). Aus allen Experimenten ging eindeutig hervor, daß die Ursache der Depression auf präsynaptischer Seite liegt und auf einem Abfall des durchschnittlichen Wertes der durch einen präsynaptischen Nervenimpuls freigesetzten Überträgerstoffmenge - m - beruht.

Es wurde versucht (z.B. Betz, 1970; Christensen and Martin, 1970; Mallart and Martin, 1967; Sacchi and Perri, 1973), diese Änderungen in m genauer zu analysieren und zwar in Form der Änderung der Wahrscheinlichkeit der Quantenfreisetzung - p - und der Zahl der zur Freisetzung zur Verfügung stehenden Stellen - n -, wobei $m = n \cdot p$ ist unter der Voraussetzung, daß die Quantenfreisetzung einem Binomialprozeß unterliegt (del Castillo and Katz, 1954a).

Beim Flußkrebis können durch extrazelluläre Ableitungen an einzelnen Synapsen bei niederen Temperaturen ($2 - 5^{\circ} \text{C}$) einzelne Quanten direkt gezählt werden. Mit Hilfe dieser Methode läßt sich zeigen, daß die Quantenfreisetzung nach einem Binomialprozeß abläuft (Johnson and Wernig, 1971) und somit die Werte für m , n und p abgeschätzt werden kön-

nen. Die Bahnung wurde bereits daraufhin untersucht mit dem Ergebnis, daß sie auf einem Anstieg in m und p beruht, nicht aber in n (Wernig, 1972; Zucker, 1973). Die Depression dagegen wurde bisher nicht im Detail analysiert.

Wie die vorliegende Arbeit zeigen wird, nimmt bei der Depression m ab, vorwiegend auf Grund einer Abnahme von n, weniger von p. Eine Verminderung der Ausbreitung des präsynaptischen Aktionspotentials (AP) in die Nervenendigungen während gleichmäßiger Reizung könnte die erniedrigten Werte von m erklären; es besteht z. B. die Möglichkeit, daß Leitungsblocks im Axon das Vordringen des Nervenimpulses in die Endigung verhindern (Krnjevic and Miledi, 1959). Diese Blocks in der Fortleitung treten vorwiegend in Bereichen axonaler Verzweigungen auf (Grossman, Spira and Parnas, 1973; Parnas, 1972; Bittner, 1968; Bittner and Harrison, 1970; Wall, Lettvin, McCulloch and Pitts, 1965; Tauc and Hughes, 1963; von Essen, 1973). Dort ist der Sicherheitsfaktor für die Impulsfortleitung erniedrigt. Wegen dieser Blocks werden weniger Synapsen aktiviert, und somit wird weniger Überträgerstoff ausgeschüttet, was zu einer Depression der postsynaptischen Antwort führt.

Ein Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob solche Axonleitungsblocks auch im Krebschreitbein vorkommen.

Neben Axonverzweigungsstellen können auch neuronale und nichtneuronale Gewebe, die das Axon umgeben, die Ursache von Blocks in der Impulsfortleitung sein. Präsynaptische Hemmung im Krebschreitbein z. B. hat ihre Ursache in einem Leitungsblock in Folge von GABA-Freisetzung eines benachbarten Axons. In der vorliegenden Arbeit wird ein Typ von Leitungsblock beschrieben, der von nichtneuronalem Gewebe, nämlich von besonders dichtem Bindegewebe erzeugt wird. Dieser führt zu einem völligen Ausfall einzelner postsynaptischer Antworten und gleichzeitig zu einem Anstieg in der Amplitude des postsynaptischen Potentials. Ein kurzer

Bericht darüber wurde bereits veröffentlicht (Hatt and Smith, 1975). Die Ursache dieses Phänomens und ihre Bedeutung für das Verhalten des Tieres werden ebenfalls diskutiert.

B. MATERIAL UND METHODEN

Alle Experimente wurden am Öffner- und Streckermuskel des ersten Schreitbeines eines erwachsenen Flußkrebsses (*Astacus leptodactylus*) durchgeführt. Die beiden Muskeln sowie das beiden Muskeln gemeinsame erregende Axon wurden präpariert und isoliert. Das Axon wurde dann sorgfältig in eine Saug-elektrode eingebracht. Die Rechteckreize betrugen gewöhnlich 0.3 ms und 0.5 - 5 V.

Speziell Muskelfasern, die im distalen Teil des betreffenden Gliedes lagen, wurden für die Studie ausgewählt, da sie sich bei Reizfrequenzen um 30 Hz nur wenig kontrahierten. Bei sorgfältiger Platzierung der Elektrode in der Nähe der Schale konnte eine Bewegung der Elektrodenspitze meist vermieden werden.

Das Präparat lag in einer modifizierten van Harreveld-Lösung (Dudel and Kuffler, 1961a). Die Badtemperatur war konstant 2 - 5°C. Während des Experiments wurde die Badlösung mehrmals ausgewechselt. Das Badvolumen betrug 20 ml.

Erregende postsynaptische Potentiale (EPSPs) wurden intrazellulär mit Glasmikroelektroden, gefüllt mit 3 mol/l KCl und mit einem Widerstand von 3 - 7 M Ω abgeleitet, extrazellulär mit Glasmikroelektroden, gefüllt mit 2 mol/l NaCl und mit einem Widerstand zwischen 0.5 - 1.5 M Ω . Das Signal wurde über einen Differentialkathodenfolger und einen Verstärker mit einer unteren und oberen Grenzfrequenz von 0.16 Hz bzw. 1 kHz auf einem Oszillographen wiedergegeben und die einzelnen Überläufe mit laufendem Film (Grasskamera) fotografiert. Intra- und extrazellulär abgeleitete EPSPs wurden außerdem in einen Computer geleitet (Nicolet 1070) und automatisch addiert. Die summierten Signale konnten auf den Oszillographen zurückgespielt und fotografiert werden. (Minolta-Kamera).

Die statistischen Auswertungen der Daten wurden mit einem programmierbaren Taschenrechner (Hewlett-Packard 65) und mit einem programmierbaren Tischrechner (Tektronix 909-03) durchgeführt. Die verwendeten statistischen Formeln sind alle in der Arbeit von Zucker (1973) wiedergegeben mit einer Ausnahme: Die Standardabweichungen von p und n wurden nach den folgenden Formeln berechnet (Zucker, pers. Mitt., 1974):

$$\text{s. e. p.} = \frac{s^2}{m} \sqrt{\frac{1}{N} \frac{(2+s^2)}{m^2} + \frac{2p^2-1}{s^2}} \quad (1)$$

$$\text{s. e. n.} = \frac{1-p}{p} \sqrt{\frac{2n(n-1)}{N}} \quad (2)$$

wobei s^2 die Varianz der Verteilung der Zahl von freigesetzten Quanten ist und N die komplette Zahl der Messungen.

C. ERGEBNISSE

I. Postsynaptische Antwort auf langdauernde repetitive Reizung

Als Antwort auf langdauernde repetitive Reizung des erregenden Motoneurons steigt die Amplitude des erregenden postsynaptischen Potentials anfänglich an, fällt dann aber unter ein Niveau ab, das signifikant niedriger liegt als der Ausgangswert. In 21 von 46 Präparationen trat darüber hinaus bei Fortdauer der Reizung ein periodischer Block in der EPSP-Antwort auf. In dieser Blocksituation, in der nur ein Teil der Nervenimpulse in den Propoditen geleitet wird, erhöht sich die EPSP-Amplitude wieder, erreicht allerdings nicht die Höhe des Anfangswertes. Typische Ergebnisse, die zu verschiedenen Zeiten während Reizung mit 20 Hz aufgenommen wurden, gibt Abb. 1 wieder. Diese und ähnliche Ableitungen von anderen Präparationen zeigten bei Reizfrequenzen zwischen 10 und 35 Hz stets dieselben Resultate: Einem anfänglichen Anstieg in der EPSP-Amplitude (0.5 min), folgt eine Verkleinerung der EPSP-Antwort, das sog. 'Depressionsstadium' (9 min), das häufig in einem periodischen Ausfall einzelner EPSPs endet (12 min).

Die Zeit bis zur Erreichung des Maximums der EPSP-Amplitude schwankte in den verschiedenen untersuchten Fasern (vgl. Bittner, 1968; Atwood, 1973) ebenso wie die Höhe der Amplitude und ließ sich nicht generalisieren. Normalerweise war das Maximum nach 1 min oder weniger als 2000 Reizpulsen erreicht. Dies gilt für Reizfrequenzen zwischen 15 - 30 Hz. Ähnlich ungenau läßt sich die Depression beschreiben. Gewöhnlich vergingen bis zum Maximum der EPSP-Verkleinerung etwa 6 - 11 min; dies entspricht 4 - 20 000 Reizpulsen.

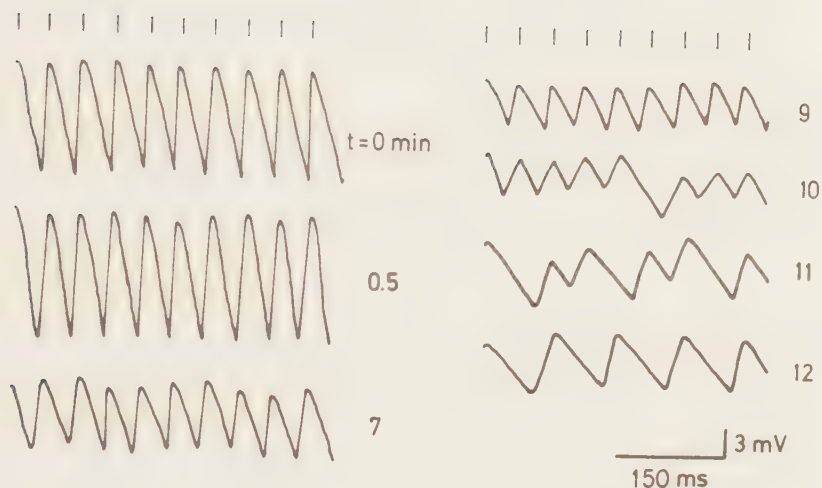


Abb. 1

Postsynaptische Antworten des Öffnermuskels auf repetitive Reizung mit 25 Pulsen/sec für 12 min. Die einzelnen Reizpulse sind über jeder Reihe angezeigt. Die Abbildungen wurden von Originalfotografien abgezeichnet, um ihre Klarheit zu steigern

Das Maximum wurde schneller erreicht, wenn die Reizfrequenz höher war. Bei Reduzierung der Reizfrequenz stieg die EPSP-Amplitude unverzüglich wieder an.

Eine einfache Erklärung für den beobachteten Abfall in der EPSP-Amplitude wäre, eine Änderung im Eingangswiderstand der Muskelfaser, dies wurde deswegen vor der Durchführung anderer Experimente untersucht. Dazu stach man 2 Glasmikroelektroden in dieselbe Muskelfaser ein, die eine, um einen Strompuls einzugeben, die andere, um die Potentialdifferenz über der Membran zu messen. Signifikante Änderungen im Eingangswiderstand ($10^5 - 10^6 \Omega$) vor, während und nach repetitiver Reizung konnten niemals beobachtet werden, auch nicht, wenn die EPSP-Amplitude maximal reduziert war. Weiterhin blieb das Membranruhepotential während repetitiver Reizung nahezu konstant auf seinem Ausgangswert (zwischen -70 und -80 mV). Deshalb konnten veränderte elektrische Eigenschaften der postsynaptischen Membran nicht für die Änderungen in der EPSP-Amplitude verantwortlich gemacht werden, und weitere Experimente auf präsynaptischer Seite waren notwendig.

II. Fehlende Aktionspotentialfortleitung in die Nervenendigung

A x o n l e i t u n g s b l o c k

Ein periodischer Ausfall in der Fortleitung des Aktionspotentials in den einen Ast einer Axonverzweigung verhindert sicherlich die Aktivierung einer Reihe von synaptischen Stellen. Als Ergebnis ist eine zeitweise verkleinerte postsynaptische Antwort zu erwarten. Wie Abb. 2 zeigt, sind die Unterschiede (Δ) in der Amplitude zweier aufeinanderfolgender EPSPs - gemessen von Spitze zu Spitze - nach einer langdauernden Reizserie mehr gestreut (Abb. 2 unten) als zu Beginn (Abb. 2 mitte) oder nach niederfrequenter Reizung (Abb. 2 oben). Die Verteilung der Amplitudenunterschiede wird nach längerer Reizung mit höheren Frequenzen deutlich multimodal (Abb. 2 unten); vermutlich, weil

sich jeweils die EPSP-Amplituden in diskreten Schritten geändert haben. Da der Öffnermuskel multiterminal innerviert wird, sollten diese Resultate ein periodisches Fehlen der Impulsfortleitung in einzelne Axonzweige widerspiegeln, womit eine Inaktivierung einer ganzen Gruppe von Endigungen verursacht würde. (Fatt and Katz, 1953; Bittner and Harrison, 1970). Diese Möglichkeit wurde deshalb durch extrazelluläre Ableitungen von AP an Axonverzweigungsstellen genauer überprüft.

Beweise für einen Leitungsblock an einer Axongabelung zeigt Abb. 3. Es handelt sich um computergemittelte extrazelluläre Ableitungen (256 Überläufe) nahe der zweiten Verzweigung des erregenden Axons im Öffnermuskel bei einer Reizfrequenz von 10 Hz und um die dazugehörenden intrazellulären EPSPs (Abb.3B). Zu Beginn der Reizung ist nur ein einziges AP (Abb. 3A) zu sehen. Mit Fortdauer des Reizes aber wird klar, daß es in Wirklichkeit aus 2 sich überlagernden AP zusammengesetzt ist. Die Fortleitungsgeschwindigkeit der AP in einem der Axonverzweigungen reduzierte sich stark (Abb. 3A nach 1 und 2 min.) und nach 2 - 4 min. kam es dort zum völligen Leitungsblock. Die Leitung über den anderen Axonzweig war nur wenig verlangsamt und rief ein - wenn auch durch den Ausfall einer Reihe von Synapsen verkleinertes - EPSP an der Muskelfaser hervor.

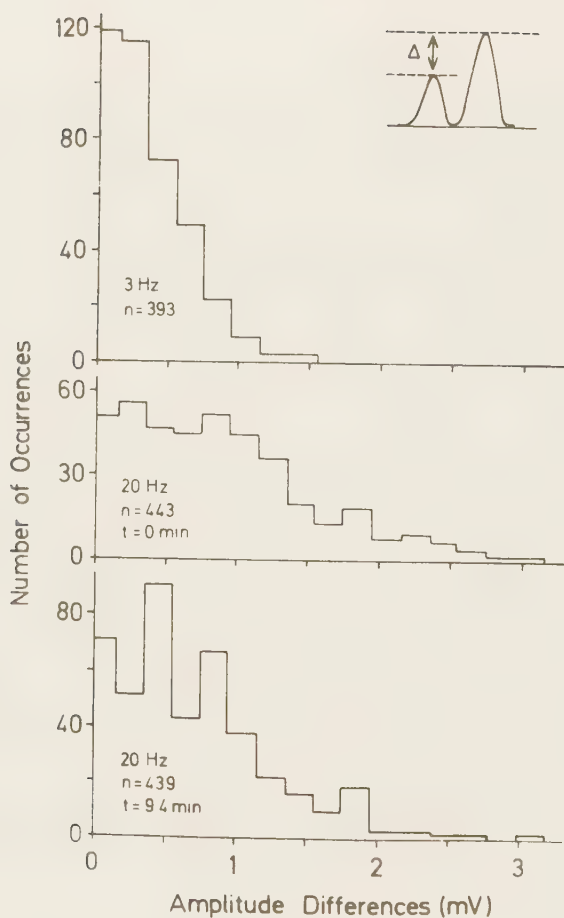


Abb. 2

Verteilung der Unterschiede (Δ) in der Amplitude zwischen aufeinanderfolgenden postsynaptischen Potentialen (EPSPs). Die Daten wurden während Reizung mit 3 Hz (oben), zu Beginn (mitte) und nach 9.4 min. Reizung mit 20 Hz (unten) erhalten. n gibt die Zahl der ausgewerteten Amplitudenunterschiede an.

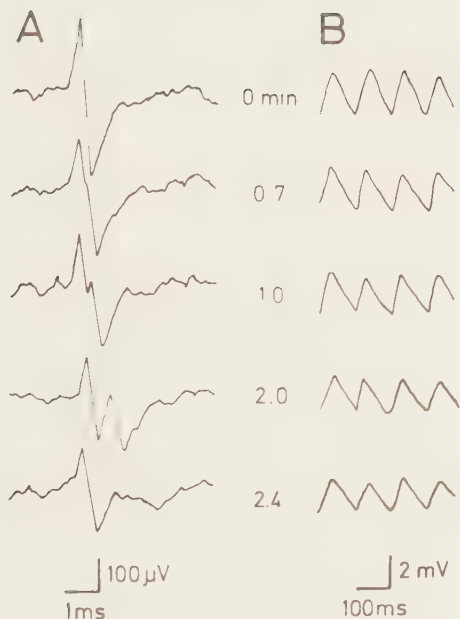


Abb. 3

Axonleitungsblock in der Nähe einer Hauptastverzweigung auf Seiten des Öffnermuskels. Computergemittelte (256 Überläufe) Ableitungen von Aktionspotentialen (A) und EPSPs (B) in Antwort auf repetitive Reizung mit 10 Hz für 2.4 min.

Ähnliche Ergebnisse liegen bereits von mehr peripher liegenden Verzweigungsstellen vor (s. Abb. 4 in Dudel, 1965b). In den meisten Präparationen sind etwa 6 Verzweigungsstellen distal des Axonhauptastes mit dem Binokular zu sehen. Blocks konnten dabei auf allen Ebenen dieser Axonverzweigungen beobachtet werden und vermutlich treten sie auch noch peripherer davon auf.

Extrazelluläre Nervenendigungspotentiale

Um die Auswirkung eines Axonleitungsblocks auf die synaptische Aktivität präziser zu erforschen, wurden focale extrazelluläre Ableitungen in der Gegend einer neuromuskulären Übertragungsstelle gemacht. Stellen, an denen der synaptische Strom deutlich registriert werden konnte, wurden ausgewählt, und außerdem mußten sie noch folgende Kriterien erfüllen (s. a. Zucker, 1973): 1) der präsynaptische Nervenspike mußte einwandfrei vom Rauschen des ableitenden Systems (das bei etwa 30 - 40 μ V lag) unterscheidbar sein, 2) die durchschnittliche Amplitude spontan freigesetzter Quanten oder von einzelnen durch Reizung hervorgerufenen Quanten mußte mindestens 80 μ V betragen (in Fällen, in denen die Quantenfreisetzung statistisch analysiert wurde, lag dieser Wert über 100 μ V und der synaptische Strom hatte eine steile Anstiegsphase; und 3) die nichtspezifischen Ströme von aktiven benachbarten Stellen durften nicht zu groß sein. Bei Einhaltung dieser Kriterien kann man sicher sein, daß die Spitze der Elektrode nahe einer präsynaptischen Nervenendigung liegt und daß der allgemeine Ausdruck "extrazelluläres Nervenendigungspotential" (ENTP), für das an dieser Stelle abgeleitete AP gebraucht werden darf.

In vielen Experimenten verkleinerte sich die postsynaptische Antwort trotz unveränderter ENTP-Amplitude. Abb. 4 zeigt computergemittelte (256 Überläufe) Antworten extra- und intrazellu-

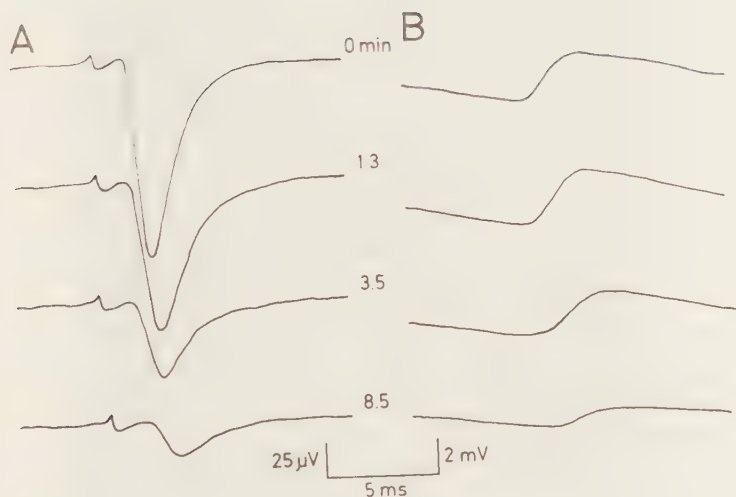


Abb. 4

Neuromuskuläre Depression während langdauernder repetitiver Reizung. Simultane Ableitung computergemittelter (256 Überläufe) extrazellulärer (A) und intrazellulärer (B) EPSPs derselben Muskelfaser, deren Amplitude während der Reizung mit 25 Hz für 8.5 min. abnimmt, während die dem extrazellulär abgeleiteten EPSPs vorausgehenden ENTPs (siehe A) in ihrer Amplitude konstant bleiben.

lärer (Abb.4 B) Ableitungen während repetitiver Reizung mit 25 Hz. Die summierte EPSP-Amplitude nimmt mit zunehmender Reizdauer ab, wogegen die ENTP-Amplitude konstant bleibt. Dies spricht gegen einen Ausfall von ENTPs.

In 14 Präparationen dagegen führte längere konstante Reizung zu einem Ausfall einzelner ENTPs und somit auch des synaptischen Stroms. Die intrazellulär abgeleiteten EPSPs, die sich aus der Aktivität von mehr als 50 - 60 (Dudel and Kuffler, 1961a; Bittner and Kennedy, 1970) synaptischer Endigungen auf einer Faser zusammensetzen, blieben dagegen - wie erwartet - ziemlich unbeeinflusst. Dies ist in Abb. 5 dargestellt, die intrazellulär (Abb.5 A) und extrazellulär (Abb.5 B) abgeleitete Antworten 11 aufeinanderfolgender Reizpulse während einer Reizung mit 20 Hz zeigt. Auf 7 der 11 Überläufe ist ein ENTP zu sehen, dessen Position durch einen Pfeil markiert ist. Jedoch auf 4 Überläufen (jede 3te Antwort, markiert durch einen Punkt auf der rechten Seite) fehlen sie;dennoch sind die meisten anderen Synapsen der Muskelfaser erfolgreich innerviert (siehe konstante intrazelluläre EPSP-Amplitude). In diesem Beispiel liegt die Stelle für den cyclisch auftretenden Leitungsblock weit distal vom Hauptaxon. Demzufolge sind nur wenige Endigungen betroffen; ähnliche Beobachtungen werden von Krnjevic and Miledi (1959) für die Ratte berichtet. Man muß dabei deutlich unterscheiden zwischen dem Fehlen einer Überträgerstoffausschüttung auf Grund eines ENTP-Ausfalls und demjenigen, das auftritt, obwohl ein Nervenimpuls in die Endigung vorgedrungen ist (del Castillo and Katz, 1954).

Gewöhnlich trat der Leitungsblock periodisch auf, und nur sehr selten war ein vollständiger Ausfall der Fortleitung zu beobachten. Ein Beispiel für einen kompletten Block einer synaptischen Endigung findet man in Abb. 6. Dargestellt sind computergemittelte (256 Überläufe) Ableitungen von extrazellulär registrierten EPSPs in Antwort auf eine Reizfre-

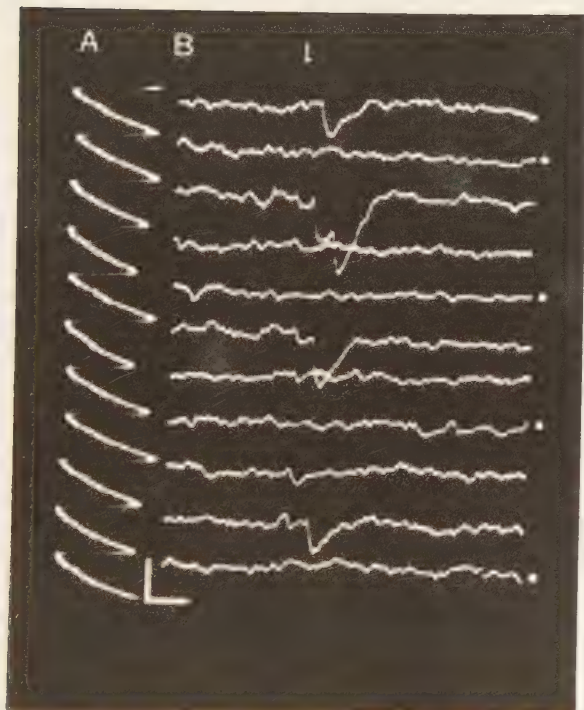


Abb. 5

Ausfall der Impulsfortleitung in einer Nervenendigung. Intrazellulär (A) und extrazellulär (B) abgeleitete EPSPs wurden durch Reizung mit 20 Hz hervorgerufen.

Beachte: Extrazellulär geht der Zeitlauf von links nach rechts, intrazellulär bei simultaner Ableitung von oben nach unten.

Die Position der ENTPs ist durch einen Pfeil in B angezeigt. Überläufe, auf denen kein ENTP registriert werden konnte, sind mit einem Punkt gekennzeichnet.

Calibration: 100 μ V (vertikal) und 5ms (horizontal); die durchschnittliche intrazelluläre EPSP-Amplitude betrug 4.2 mV.

quenz von 20 Hz über eine Periode von 4.6 min. Zu Beginn der Reizung lassen sich negativ gerichtete EPSPs erkennen, denen ein leicht positiv gerichteter, nicht spezifischer Strom von benachbarten Synapsen vorausgeht, der eine gute Darstellung der ENTPs verhindert. Mit Dauer der Reizung kehren sich die negativen EPSPs schrittweise mehr und mehr in positiv gerichtete Potentiale um. Dies ist charakteristisch für extrazelluläre Ableitungen, die man an nicht aktiven, nicht synaptischen Stellen auf der Muskelfaser erhält (vgl. Abb. 1 A von Zucker, 1974 a). Die beobachteten Ströme stammen jetzt von den Aktivitäten anderer Synapsen, dagegen nicht mehr von der Aktivität der anfänglich registrierten synaptischen Stelle. Diese Abbildung demonstriert den schrittweisen Ausfall von Impulsen (entsprechend dem Abfall in der Amplitude der gemittelten negativ gerichteten EPSPs). Nach 4'6 min. ist diese synaptische Stelle dann völlig inaktiv. Bereits eine Pause von wenigen sec. genügt, um die Ausgangsbedingungen wieder herzustellen.



Abb. 6

Inaktivierung einer synaptischen Übertragungsstelle durch einen Ausfall der Impulsfortleitung in der Nähe der Nervenendigung. Computergemittelte (256 Überläufe) extrazellulär abgeleitete EPSPs in Antwort auf repetitive Reizung mit 20 Hz für 4.6 min. Anfangs ($t = 0$) sind die EPSPs negativ, aber mit Fortdauer der Reizung werden sie mehr und mehr positiv; nach 4.6 min. sind die beobachteten Ströme rein positiv. Die Reizdauer ist jeweils über der Ableitung angegeben.

S y n a p t i s c h e V e r z ö g e r u n g

Elektronenmikroskopische Bilder zeigen, daß es unter dem mit einem Lichtmikroskop sichtbaren Niveau noch weitere Axonverzweigungen gibt (Lang, Atwood and Morin, 1972). Die Aktivität in diesen peripheren Verzweigungen kann mit den gegenwärtigen Methoden nicht direkt abgeleitet werden, und so war es notwendig, auf indirektem Weg dort eine mögliche Unterbrechung der Impulsfortleitung zu erforschen. Ein Hinweis auf einen entstehenden Leitungsblock an einer Stelle mit niedrigem Sicherheitsfaktor ist ein Abfall in der Leitungsgeschwindigkeit (Grossmann, Spira and Parnas, 1973, Goldstein and Rall, 1974). Deswegen wurde das Intervall zwischen negativer Spitze des ENTPs und dem Beginn des extrazellulär abgeleiteten EPSPs gemessen. Dies ist eine gebräuchliche Methode, um die synaptische Verzögerung abzuschätzen (vgl. Katz and Miledi, 1965) und für die Anwendung beim Flußkrebs von besonderer Bedeutung, da es hier unmöglich ist, die Lage der Elektrodenspitze im Verhältnis zur tatsächlichen Freisetzungsstelle zu sehen.

Die synaptische Verzögerung nimmt mit der Dauer der Reizung zu und erreicht ihr Maximum, kurz bevor kein synaptischer Strom mehr zu registrieren ist. Typische Ergebnisse zeigt Abb. 7. Sie stammen aus einer Versuchsreihe, bei der die Reizfrequenz 20 Hz betrug. Die synaptische Verzögerung nimmt stets zu und ebenso die Varianz ihrer Verteilung: ein Indiz für einen beginnenden Leitungsblock, der zu einem Ausfall von Impulsen in der Endigungsgegend führt. (Die Zahl der Beobachtungen in Abb. 7 C kurz vor Auftreten des Blocks war zu klein, um ein stationäres Muster zu erhalten).

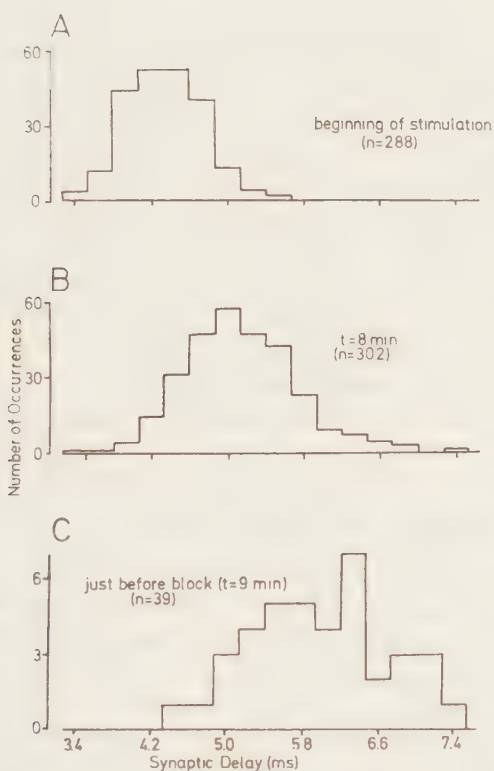


Abb. 7

Zunahme der synaptischen Verzögerung während fortgesetzter repetitiver Reizung. Die Verzögerung wurde zu Beginn (A), nach 8 min. (B) und nach 9 min. (C) Reizung mit 20 Hz gemessen. Die Ergebnisse in C wurden unmittelbar vor einem Leitungsblock erhalten. n gibt jeweils die Zahl der ausgewerteten Daten an.

Wirkung einer Reizpause

Befindet sich ein Axon in einem Blockzustand, so bewirkt eine Unterbrechung der Reizung eine vorübergehende Erholung von den Blockbedingungen. In Abb. 8 wurde das Präparat mit 10 Hz so lange gereizt, bis einzelne ENTPs auszufallen begannen, daraufhin die Reizung für 10 min unterbrochen, und dann wieder bis zum ersten Auftreten eines Blockes gereizt. Anschließend wurde wiederum eine fünfminütige Pause eingelegt. Dies wurde wiederholt für Pausen von 2 und 0.5 min. Die synaptische Verzögerung vergrößerte sich schneller, als die Dauer der vorhergehenden Pause abnahm. Waren die Unterbrechungen kürzer als 5 min, so hatte die synaptische Verzögerung unmittelbar nach der Pause noch nicht den zu Anfang gemessenen Kontrollwert erreicht.

III. Überträgerstofffreisetzung während des Leitungsblocks

Ein periodischer Ausfall der Fortleitung von Nervenimpulsen in eine Endigung sollte zu einer Verminderung der durchschnittlichen Menge von freigesetztem Überträgerstoff - m - an der synaptischen Übertragungsstelle führen (Dudel and Kuffler, 1961c; Dudel, 1965b). Um quantitativ diese Reduzierung von m zu studieren, wurde die Überträgerstofffreisetzung an einer einzelnen synaptischen Stelle durch extrazellulär abgeleitete EPSPs untersucht. Hält man das Präparat in einer Badlösung mit niederen Temperaturen $2 - 5^{\circ}\text{C}$, so können einzelne Quanten gesehen werden. Diese Verteilung der beobachteten Quantenzahl kann durch die Binomialstatistik mit den Parametern - n -, der Zahl der Freisetzungstellen, und - p -, der mittleren Wahrscheinlichkeit für eine Freisetzung beschrieben werden. Daten aus 4 Experimenten, bei denen ein periodischer Block in den Nervenendigungen auftrat, wurden analysiert und die Werte von n, m und p abgeschätzt (vgl. Zucker, 1973).

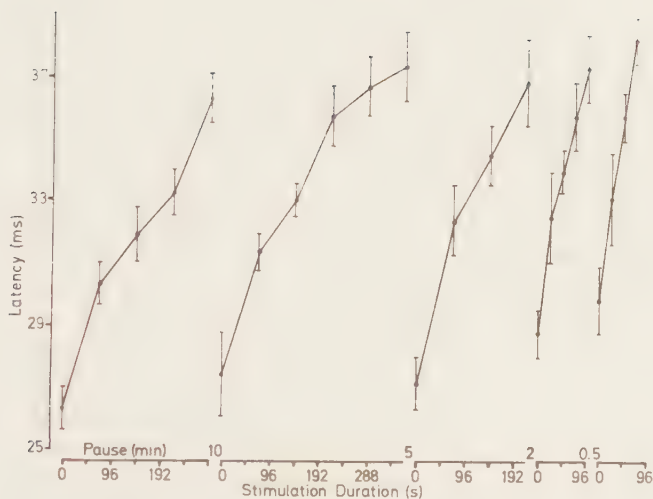


Abb. 8

Wirkung von Reizpausen auf die synaptische Verzögerung. Zuerst wurde mit 10 Hz so lange gereizt, bis ein Leitungsblock auftrat, dann die Reizung für 10 min. unterbrochen und anschließend wieder gereizt, bis es erneut zum Leitungsblock kam. Dies wurde für Pausenlängen von 5 min., 2 min. und 0.5 min. wiederholt. Jeder Wert der synaptischen Verzögerung ist aus dem Mittel von 10 Werten $\pm$ Standardabweichungen gebildet.

Während des periodischen Blocks fällt der Wert von m ab, vorwiegend, weil n kleiner wird. Dies zeigt Abb. 9 (nur die Kreise). Die Zahl der Ausfälle in der Innervation der Endigung (Abb. 9 A) und die Werte für m (Abb. 9 B), p (Abb. 9 C) und n (Abb. 9 D) $\pm$ s. a. wurden für jeweils 50 aufeinanderfolgende Überläufe während einer 40 sec. dauernden Reizperiode von 20 Reizen/sec. berechnet. Der Wert für m fällt im gleichen Maße ab (Abb. 9 B), wie die Zahl der Ausfälle in der AP-Fortleitung zunimmt (Abb. 9 A). Nach 25 sec. haben alle Parameter ein stabiles Gleichgewicht erreicht, wobei jedes 2te ENTP fehlt (sog. 1:1-Block). Während der gesamten Dauer dieses Experiments wurde jedoch jeder Reizpuls mit einem intrazellulär abgeleiteten EPSP beantwortet.

Eine richtige Abschätzung dieser Parameter erhält man nur, wenn man die Blocks in der Impulsfortleitung nicht in die Berechnungen miteinbezieht. Um aufzuzeigen, zu welchen falschen Werten man kommt und welche beträchtliche Unterschiede auftreten, sind die Abschätzungen, bei denen diese Blocks miteingerechnet sind, ebenfalls in Abb. 9 dargestellt (Abb. 9, Kreuze).

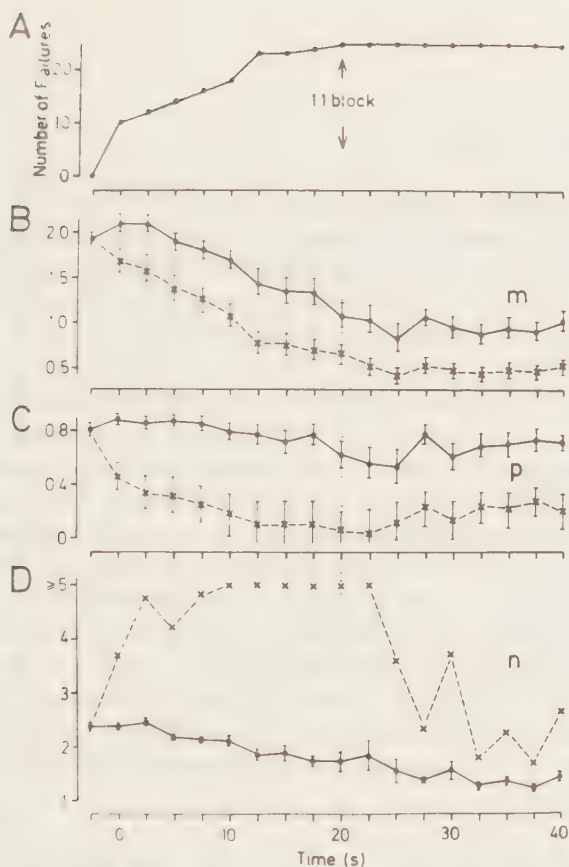


Abb.9

Änderungen in der Statistik der Überträgerstofffreisetzung während einer Depression auf Grund eines Ausfalls der Impulsfortleitung in die Nervenendigung.

Die Reizungsfrequenz betrug 20 Hz, und ausgewertet wurden die ersten 40sec (Abszisse) nach dem Auftreten eines Impulsausfalles ("0" auf der Abszisse). Kontrollwerte, die unmittelbar vor dem Leitungsblock erhalten wurden, sind ebenfalls zu sehen - (Punkte hinter "0"). In A ist die Zahl der Ausfälle in der Impulsfortleitung gezeigt. Dies wurde durch das Fehlen von ENTPs festgestellt. Die korrekten Abschätzungen, also ohne daß Leitungsblocks in die Berechnung eingeschlossen wurden, von m (B), p (C) und n (D) sind als Kreise gezeichnet. Nichtkorrekte Abschätzungen, bei denen auch die Impulsausfälle miteinbezogen wurden, sind als Kreuze dargestellt, um zu zeigen, welche Fehler in solchen Berechnungen auftreten. Jeder Wert bedeutet das Mittel $\pm$ Standardabweichung aus 50 Beobachtungen. Nach 20 sec (gepunktete Linie) fiel jeder zweite Impuls aus, was als 1:1-Block bezeichnet wird.

Depression der Überträgerstoff- ausschüttung

Wie schon einleitend erwähnt, kommen zwei Phänomene als Ursache für die Depression in Frage: 1) der Ausfall der Impulsfortleitung in die Nervenendigungsgegend des Motoaxons und 2) eine Reduzierung der durchschnittlichen Überträgerstoffmenge, die bei jedem Nervenimpuls freigesetzt wird.

Punkt 1) wurde im bisherigen Teil der Arbeit besprochen. Die folgenden Ergebnisse stammen ausschließlich von Präparationen, die kein Anzeichen für einen Block in der Nervenendigungsregion erkennen ließen. Es wurden nur Daten benützt, bei denen auf jeden Reiz auch ein ENTP registriert werden konnte und keine Verzögerung der präsynaptischen Impulsfortleitung sichtbar wurde. Die Werte von m , n und p wurden zu verschiedenen Zeiten während Reizung mit 10 - 25 Hz abgeschätzt, um zu untersuchen, in welchem Verhältnis die Reduzierung dieser Werte im Vergleich zur Abnahme der intrazellulär abgeleiteten EPSP-Amplitude steht. Die Ergebnisse von 5 Experimenten sind in Tab. I präsentiert, und die eines 6. Experimentes mit einer Reizfrequenz von 10 Hz in Abb. 10.

Aus der Auswertung der Tab. I geht hervor, daß Depression auf einer Reduzierung von m und p beruht. Das Verhalten von n jedoch war etwas schwieriger zu beurteilen, da mit Abnahme der Werte von m während der Depression die zugrundeliegende Verteilung der Quantenfreisetzung schrittweise sich mehr und mehr derartig veränderte, wie man es von einem Poissonprozeß erwartet, bei dem p und n bedeutungslos sind. Deswegen wurde die Abschätzungen von p und besonders von n mit zunehmender Reizdauer weniger zuverlässig.

Die Daten von Abb. 10 waren in dieser Hinsicht eine Ausnahme, da sie nicht zur Poissonverteilung tendierten ($P < 0.001$), son-

Tab. I

Freisetzungstatistik von 5 ausgewählten synaptischen Übertragungsstellen (site no. I - V). Ein ENTp wurde als Antwort auf jeden Reizpuls beobachtet. $\underline{\text{stim}}$ gibt die jeweilige Reizfrequenz und T die Dauer der Reizung an. f_{spont} bedeutet die Zahl der pro Minute freigesetzten Quanten.

Site no.	$\frac{\text{Stim.}}{s}$	T (min)	N	$m \pm s.e.$	$p \pm s.e.$	$n \pm s.e.$	EPSP amplitude (mV)	f_{spont} (quante/min)
I	15	0	500	2.27 ± 0.03	0.79 ± 0.02	2.86 ± 0.04	5.49 ± 0.01	5.2
		3	500	1.46 ± 0.04	0.49 ± 0.03	2.97 ± 0.16	3.32 ± 0.02	5.3
		8	500	0.69 ± 0.03	0.36 ± 0.04	1.88 ± 0.14	3.10 ± 0.02	5.5
		13	500	0.20 ± 0.02	0.02 ± 0.06	9.26 ± 24.58	2.99 ± 0.01	5.8
II	20	0	377	1.78 ± 0.04	0.63 ± 0.02	2.81 ± 0.10	3.67 ± 0.03	3.8
		5	413	0.38 ± 0.03	-0.29 ± 0.12	-1.30 ± 0.53	2.01 ± 0.02	5.8
		12	414	0.22 ± 0.02	-0.14 ± 0.10	-1.58 ± 1.16	1.18 ± 0.01	8.0
III	20	0	500	2.44 ± 0.03	0.81 ± 0.01	3.02 ± 0.04	5.78 ± 0.02	6.2
		1	239	2.08 ± 0.06	0.65 ± 0.03	3.17 ± 0.13	4.88 ± 0.01	5.9
		5	200	0.90 ± 0.05	0.45 ± 0.04	1.99 ± 0.17	2.42 ± 0.02	7.8
IV	20	0	606	2.88 ± 0.03	0.78 ± 0.01	3.70 ± 0.06	6.10 ± 0.02	4.8
		8	389	1.71 ± 0.05	0.54 ± 0.03	3.17 ± 0.16	2.98 ± 0.02	10.2
V	25	0	443	2.74 ± 0.04	0.76 ± 0.02	3.63 ± 0.06	4.80 ± 0.02	6.1
		3	516	2.15 ± 0.04	0.67 ± 0.02	3.19 ± 0.08	3.66 ± 0.02	6.4
		16	426	0.70 ± 0.03	0.29 ± 0.04	2.41 ± 0.31	2.64 ± 0.01	6.9

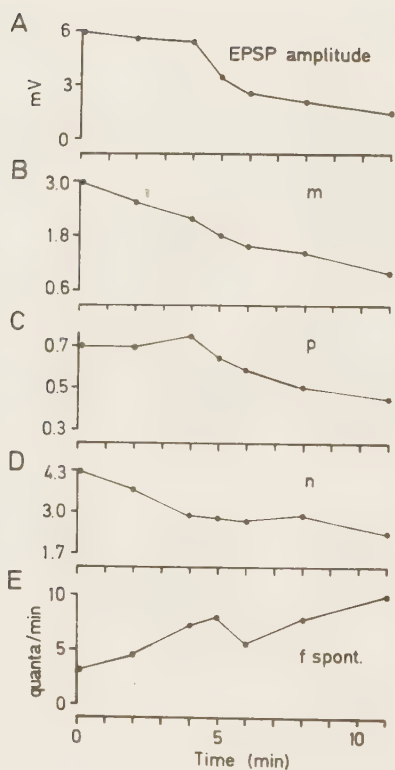


Abb. 10

Änderung in der Statistik der Überträgerstofffreisetzung während der Depression; die Ergebnisse wurden von Ableitungen erhalten, bei denen auf jedem Überlauf deutlich ein ENTP zu sehen war. In Antwort auf repetitive Reizung mit 20 Hz ist der Verlauf der EPSP-Amplitude (A), die Abschätzungen von m (B), p (C) und n (D) und die Frequenz der spontan freigesetzten Quanten (E) während 11 min. Reizung zu sehen.

dern auch noch nach 11 min. Reizung gut mit der Binomialstatistik beschrieben werden konnten ($P < 0.07$). Abschätzungen, die auf diesen Daten beruhten, zeigen in Übereinstimmung mit Tab. I eine Abnahme von n während der Depression. Die Werte für n nehmen besonders in den ersten 4 min. deutlich ab, nicht dagegen die von p ; nach 4 min. fallen beide ab. Man kann also zusammenfassend sagen, daß während der Depression die Werte für m , n und p reduziert werden, zu diesem Ergebnis kam auch McLachlan (1975) in seiner Arbeit über präganglionische Nervenendigungen beim Meerschweinchen.

S p o n t a n e Q u a n t e n f r e i s e t z u n g

Sollte eine Erschöpfung des Vorrates an zur Freisetzung zur Verfügung stehenden Überträgerstoff Ursache der Depression sein, so sollte man erwarten, daß entsprechend der Depression auch die spontane Freisetzung des Überträgerstoffes abnimmt. Jedoch gab es keine Anzeichen, daß die Frequenz spontan freigesetzter Einheiten (f_{spont}) während langanhaltender periodischer Reizung niedriger wurde (Tab. I, Abb. 10), selbst nicht bei beträchtlicher Depression der postsynaptischen Antwort. In der Mehrzahl der Experimente nahm die Frequenz der Miniaturpotentiale sogar zu, oft um mehr als 200 %.

Die Wirkung repetitiver Reizung auf die spontane Freisetzung wurde weiterhin im folgenden Experiment untersucht: Ohne Reizung des Motoneurons wurden spontan freigesetzte Quanten intrazellulär abgeleitet, anschließend das Motoneuron mit einer Frequenz von 25 Hz für 20 min. gereizt, bis die EPSPs eine starke Depression zeigten und unmittelbar nach Ende der Reizung die spontane Freisetzung wiederum gemessen wurde. Die Amplitudengröße und die Länge des Zeitintervalls zwischen aufeinanderfolgenden Quanten wurde ausgewertet und ihre Verteilung - vor und nach Reizung - in Abb. 11 u. 12 dargestellt. Obwohl kleine Änderungen im Kurvenverlauf zu sehen sind, gibt es keinen signifikanten Unterschied in den beiden

registrierten Verteilungen.

Die Intervallverteilung kann im übrigen vor und nach der Reizung als Exponentialfunktion beschrieben werden ($p < 0.2$), was bedeutet, daß die Freisetzung der einzelnen Quanten voneinander unabhängig ist (s. auch Fatt and Katz, 1952).

Um Tendenzen in der Verteilung zu erforschen, wurden die Daten in 10 Gruppen von 50 Werten eingeteilt und eine Analyse von Varianz und Kovarianz vorgenommen; dabei konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden; ebenso nicht bei einer weiteren Kontrolle ($p > 0.5$), bei der die letzten 10 Intervalle vor der Reizung mit den 10 ersten Intervallen nach der Reizung verglichen wurden. Diese Ergebnisse sind übereinstimmend mit denen von Dudel and Kuffler (1961a), stehen aber im Gegensatz zu denen von Cohen, Kita and von der Kloot (1974).

A m p l i t u d e , d e r E N T P s

Änderungen in der Amplitude der ENTPs könnten für die beobachtete Abnahme in m während der Depression verantwortlich gemacht werden (vgl. Dudel, 1965a). Jedoch wurden keinerlei derartige Änderungen beobachtet, wie Abb. 14 zeigt, bei der computergemittelte (256 Überläufe) extrazelluläre Ableitungen (A) während repetitiver Reizung mit 25 Hz wiedergegeben sind. Die summierte ENTP-Amplitude bleibt während des gesamten Experimentes konstant. Auch die Untersuchung einzeln registrierter ENTPs brachte keinen Hinweis auf eine Amplitudenänderung.

IV. Leitungsblock im Hauptast des Axons

Setzt man die Reizung eines in der Depressionsphase befindlichen Präparates fort, so führt das oft zu einem totalen Ausfall intrazellulär abgeleiteter EPSPs und endet meist in einer

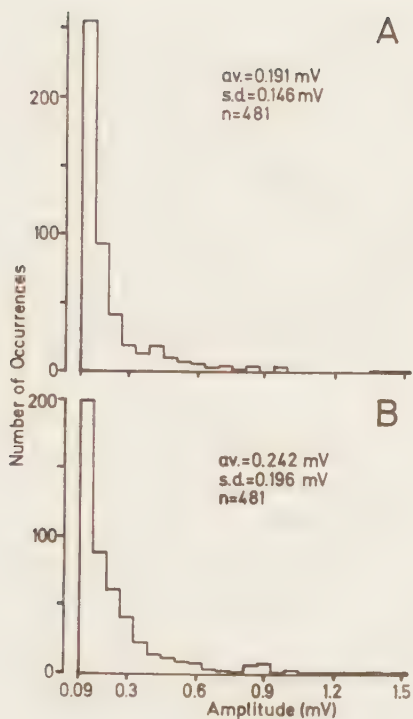


Abb. 11

Amplitudenverteilung von intrazellulär abgeleiteten spontan freigesetzten Quanten vor (A) und nach (B) repetitiver Reizung des präsynaptischen Nerven mit 25 Hz. av ist der Mittelwert der Quanten-Amplitude, s. d. die Standardabweichung und n die Zahl der ausgewerteten spontanen Ausschüttungen.

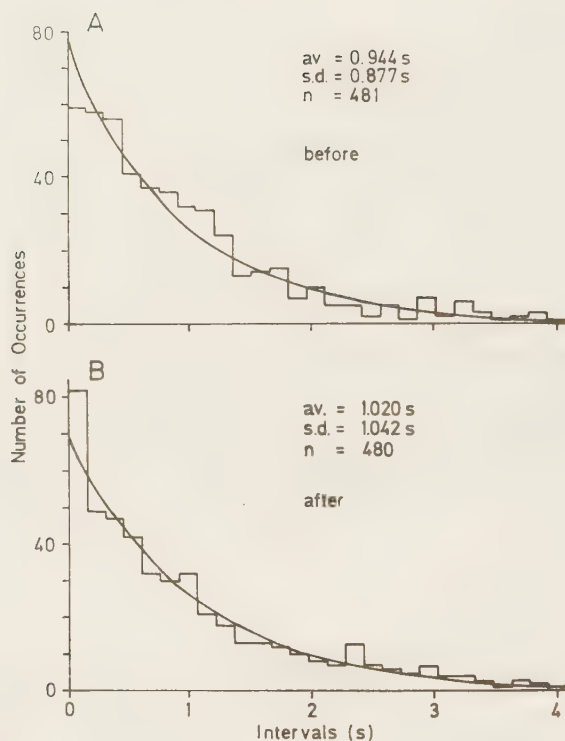


Abb. 12

Verteilung der Intervalle zwischen aufeinanderfolgenden intrazellulär abgeleiteten spontan freigesetzten Quanten vor (A) und nach (B) repetitiver Reizung mit 25 Hz. Die durchgezogene Linie zeigt die Kurve, die man bei einer exponentiellen Verteilung der Daten erwarten würde.

stabilen Situation, in der jedes 2te EPSP fehlt, dem sog. '1:1-Block'. Bei 14 Präparaten - in fast allen Fällen handelte es sich um Tiere, die kurz vor der Häutung standen - trat dieser 1:1-Block sogar ohne vorhergehende Depression bereits nach 2 - 4 min. Reizung mit 15 - 25 Hz auf. Abb. 1 zeigt den typischen Verlauf intrazellulär abgeleiteter EPSPs bis zum 1:1-Block. Bei einer Reizfrequenz von 25 Hz beginnen nach 10 min. periodisch einzelne EPSPs auszufallen und innerhalb weiterer 2 min. fällt regelmäßig jedes 2te EPSP aus. Außerdem nimmt die EPSP-Amplitude in diesem Blockstadium wieder zu (siehe nach 12 min.).

Der Ausfall postsynaptischer Antworten hängt vorwiegend von der Anzahl der Reizpulse ab (ungefähr nach 7 - 12 000 Pulsen). Deswegen beschleunigt eine Erhöhung der Reizfrequenz den Gesamtprozeß. Dies beweist Abb. 13, in der die postsynaptischen Antworten zweier Zellen verschiedener Flußkrebse auf Reizung mit 20 Hz (Abb. 13 A) und 30 Hz (Abb. 13 B) wiedergegeben sind. Auf eine anfängliche Bahnungsphase (siehe 1 min.) folgt eine starke Depression und danach der Ausfall von EPSPs (Pfeile), der wiederum mit einem Anstieg der EPSP-Amplitude korreliert ist.

Die Zeit bis zum Eintritt des Blockzustandes wird mit Fortdauer des Experiments kürzer, d. h. der dem Block zugrundeliegende Mechanismus scheint auf einer kumulativen Wirkung mit einer langsamen Zerfallszeit zu beruhen. Abb. 14 zeigt die Abhängigkeit der Zeit vom Reizbeginn bis zum ersten Auftreten eines 1:1-Blocks von der Pausenlänge. Die Reizfrequenz beträgt 25 Hz. 0.5 min. nach einem 1:1-Block wurde wieder mit 25 Hz gereizt und die Zeit bis zum erneuten 1:1-Block registriert. Dies wurde für Pausen von 1, 2, 8 und 10 min. wiederholt. Aus Abb. 14 wird ersichtlich, daß mit abnehmender Pausenlänge auch die Reizzeit, die nötig ist, um einen EPSP-Ausfall hervorzurufen, kürzer wird.

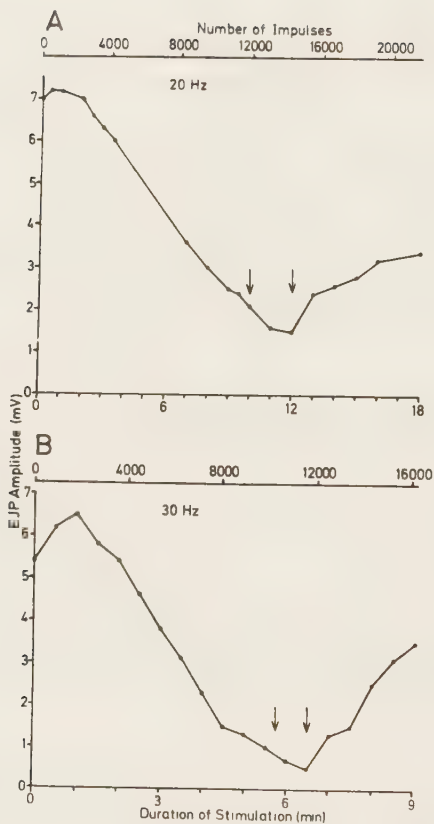


Abb. 13

Änderungen in der EPSP-Amplitude während langdauernder repetitiver Reizung mit 20 Hz (A) und 30 Hz (B). Der Zeitpunkt, zu dem der erste EPSP-Ausfall auftrat (linker Pfeil) und zu dem ein stabiler 1:1-Block vorlag (rechter Pfeil), wurde jeweils gekennzeichnet.

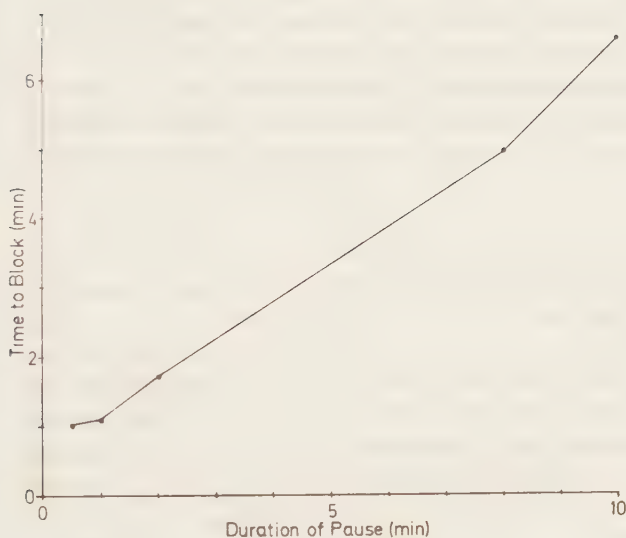


Abb. 14

Wirkung der Länge einer Reizpause auf das Wiederauftreten eines 1:1-Blocks. Es wurde so lange mit 25 Hz gereizt, bis ein 1:1-Block eintrat, dann wurde die Reizung für eine bestimmte Zeit unterbrochen (Abszisse) und anschließend wieder mit 25 Hz bis zum erneuten 1:1-Block gereizt.

Die niedrigste Reizfrequenz, bei der ein Blockzustand erreicht wurde, betrug 15 Hz, normalerweise waren jedoch 20 - 25 Hz notwendig. Bei Reizfrequenzen zwischen 40 - 50 Hz entwickelte sich sehr schnell ein 1:1-Block, oft auch ein vollständiger EPSP-Ausfall. 1:1-Blocks, die mit Frequenzen zwischen 15 - 30 Hz erzeugt wurden, waren in der Regel sehr stabil und konnten länger als eine Stunde gehalten werden.

Ausfall der Impulsfortleitung in einer Gegend mit dichtem Bindegewebe

Der abrupte Ausfall der EPSPs weist auf einen Leitungsblock im Axon hin. Ferner muß man annehmen, da alle synaptischen Übertragungsstellen des Öffnermuskels inaktiviert sind, daß dieser Block an einer sehr zentralen Stelle liegt. Dies wurde genauer durch extrazelluläre Ableitungen von AP an verschiedenen Stellen entlang des Axons untersucht. Tatsächlich ergaben die Messungen, daß der Leitungsblock in der Gegend des Gelenks zwischen Carpopoditen und Propoditen lokalisiert ist. Da es sich um ein gemeinsames erregendes Axon von Öffner- und Streckermuskel handelt, tritt ein periodischer Aktivitätsausfall an den Öffnermuskelsynapsen, nicht aber an denen des Streckermuskels auf. In Abb. 15 sind simultane Ableitungen von Strecker- und Öffner-EPSPs und von Aktionspotentialen, die unmittelbar distal des Gelenks registriert wurden, zu sehen. Nach 6 min. repetitiver Reizung mit 25 Hz beobachtet man auf der Öffnerseite einen 1:1-Block, bei den EPSP-(Abb.15B) wie auch den AP-Antworten (Abb.15 C); auf der Streckerseite wird weiterhin jeder Reiz mit einem EPSP beantwortet (Abb.15 A). Um die Stelle, an der die Fortleitung des AP ausfällt, genauer zu bestimmen, wurde der Nerv in der Gelenkgegend mit Methylenblau angefärbt. Das Ziel dieser Untersuchung war, Änderungen in der Axongeometrie,

wie Axonverzweigungen oder -oberflächenänderungen, festzustellen - Ursachen, von denen bekannt ist, daß sie einen Leitungsblock hervorrufen können (Goldstein and Rall, 1974; Khodorov, Timin, Vilenkin and Gulko, 1969). Keine dieser Ursachen konnte nachgewiesen werden. Überdies, wenn man das Axon unmittelbar nach dem Gelenk durchschnitt und dann distal der Schnittstelle reizte, trat selbst nach 30 min. Reizung mit 25 Hz kein Leitungsblock auf.

Einen Anhaltspunkt für die Lokalisierung und die Ursache des Blocks ergaben Experimente mit Krebsen in verschiedenen Häutungsstadien. Bei 12 Tieren, die kurz nach der Häutung getestet wurden, konnte der charakteristische Leitungsblock nicht gefunden werden. Dabei fiel während der Präparationen auf, daß das sonst regelmäßig dichte Bindegewebe in der Gegend des Gelenks fehlte, oder nur sehr locker vorhanden war. Dies läßt vermuten, daß die Ursache des Blocks in der Anwesenheit von dichtem Bindegewebe zu suchen ist.

2 weitere Experimente bestätigten diese Annahme: Sollte der Leitungsblock tatsächlich nicht wegen geometrischer Faktoren der Axonstruktur, sondern wegen besonderer Eigenschaften des umgebenden, nichtneuronalen Gewebes auftreten, so wäre zu erwarten, daß 1) ein Leitungsblock auch bei antidromer Reizung auftritt, und 2) andere Axone, die ebenfalls durch diese Gewebe laufen, auch einen Leitungsblock zeigen. Beide Phänomene konnten bestätigt werden. Reizt man das erregende Axon antidrom, so tritt der EPSP-Ausfall im Streckermuskel auf. Ferner führt repetitive Reizung des hemmenden Axons, das mit dem erregenden Axon zusammen durch das Gelenk läuft, ebenfalls zu einem Leitungsblock. In einem Experiment, in dem erregendes und hemmendes Axon gleichzeitig mit derselben Saugelektrode gereizt wurden, blockierte zuerst die Leitung im hemmenden Axon.

Diese Untersuchungen verdichten die Vermutung, daß man den

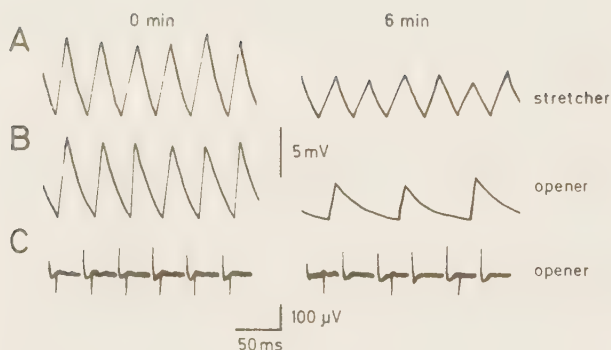


Abb. 15

Axonleitungsblock im Öffnermuskel.

Die EPSPs wurden im Streckermuskel (A) und im Öffnermuskel (B) gleichzeitig zu Beginn (0 min.) und nach 6 min. Reizung mit 25 Hz abgeleitet. Die AP (zwischen den nach oben gerichteten Reizartefakten) wurden extrazellulär distal des Gelenkes zwischen Pro- und Carpopoditen auf der Öffnerseite registriert (C).

Leitungsblock mit dem verstärkten Bindegewebe in Zusammenhang bringen muß. Jedoch war es notwendig, andere nichtneuronale Möglichkeiten auszuschließen. Z. B. könnte auch die Lage des Präparats in der Versuchskammer eine Leitungsunterbrechung bewirken. Deshalb wurde systematisch der Winkel des Gelenkes zwischen Pro- und Carpopoditen variiert; dies hatte aber keine Wirkung. Auch mögliche Ernährungsschwierigkeiten wurden durch Zugabe von Glucose zur Badlösung als Ursache des Blocks ausgeschlossen.

Das Fehlen von genügend Sauerstoff oder Ionenakkumulationen waren wegen zu geringer Zirkulation im Bad weit schwieriger auszuschließen. Häufiger Wechsel der Badlösung sowie Durchspülung des Präparats mit einer Pipette änderten nichts an der Blocksituation. Jedoch ist es durchaus denkbar, daß das dichte Bindegewebe eine ausreichende Zirkulation in der Gegend des Axons verhindert. Es war nicht möglich, experimentelle Bedingungen herzustellen, die genau den günstigen Zirkulationsbedingungen im lebenden Tier entsprachen.

A b n e h m e n d e A x o n l e i t u n g s - g e s c h w i n d i g k e i t

Ein Ausfall der Impulsfortleitung an Stellen mit niedrigem Sicherheitsfaktor für die Weiterleitung ist charakterisiert durch eine verminderte Leitungsgeschwindigkeit des fortgeleiteten Nervenimpulses (Goldstein and Rall, 1974; Grossman, Spira and Parnas, 1973). Ähnlich findet man auch beim vorliegenden Leitungsblock eine reduzierte Leitungsgeschwindigkeit, was Abb. 16 veranschaulicht. Die Latenz zwischen dem Reizartefakt zu Beginn des EPSPs im Strecker und dem AP in der Gegend des Öffners wurde während repetitiver Reizung mit 25 Hz gemessen. Sie nimmt in der Ableitung im Propoditen gegenüber dem Carpopoditen sichtbar zu. (Die leichte Zunahme bei allen Messungen nach 2,5 min. kommt vermutlich von einer Störung in der Saugelektrode). Ein großer Sprung in der La-

tenz tritt kurz vor Einsetzen des 1:1-Blocks auf; dieser ist in der Abbildung durch einen Pfeil markiert. Während der 1:1-Block-Phase stabilisiert sich dann die Leitungsgeschwindigkeit wieder.

Nervenentladungsrate im lebenden Tier

Es ist natürlich von Interesse, ob dieser Leitungsblock auch während des normalen Verhaltens im intakten Tier auftritt oder ob es sich lediglich um einen Artefakt unter den experimentellen Bedingungen handelt. Repetitive Reizung des Nerven mit 20 - 30 Hz für 6 - 10 min. z. B. könnte völlig unphysiologisch sein. Um dies zu überprüfen, wurde eine Elektrode aus Kupferdraht mit 100 μ Durchmesser, die mit Ausnahme der Spitze isoliert war, durch ein kleines Loch in der Schale des Propoditen in den Öffnermuskel des lebenden Krebses eingeführt. So konnte die elektrische Aktivität des Muskels (das Elektromyogramm, EMG) abgeleitet werden. Der Krebs wurde dann in einen Tank gesetzt, in dem er sich frei bewegen konnte, während die Impulsrate des Öffnermuskels registriert wurde. In Abb. 17 ist die durchschnittliche Zahl von Entladungen des Öffners über eine Periode von 9 min. entsprechend der Zahl der im EMG registrierten Muskelpotentiale dargestellt. Jeder Punkt gibt dabei die durchschnittliche Entladungszahl während 500 ms wieder. Die Aktivität des erregenden Nerven in diesem Experiment, bei dem das Tier ständig mit einer Pinzette gereizt wurde, ist in etwa die gleiche wie bei den künstlichen Versuchsbedingungen. Man kann also sagen, daß die verwendeten Reizparameter, um einen Leitungsblock hervorzurufen, im physiologischen Bereich lagen.

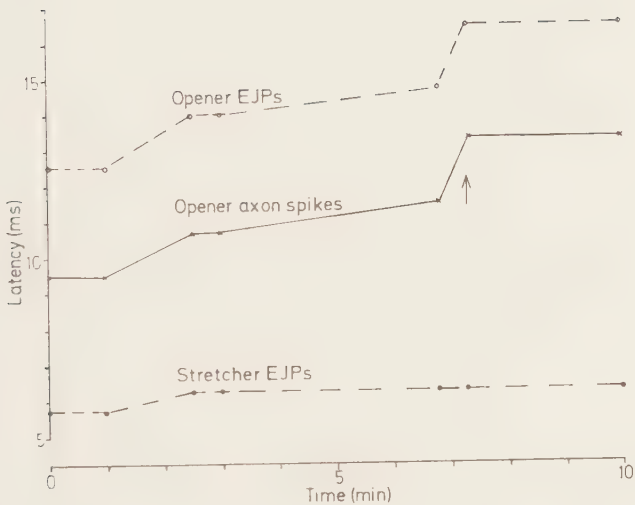


Abb. 16

Reduzierung der AP-Leitungsgeschwindigkeit während fortdauernder repetitiver Reizung mit 25 Hz. Die Latenz zwischen Reizpuls und dem Beginn des EPSPs im Strecker- und Öffnermuskel und dem AP auf Seiten des Öffners wurde ausgewertet. Das erste Auftreten eines 1:1-Blocks ist durch einen Pfeil angezeigt.

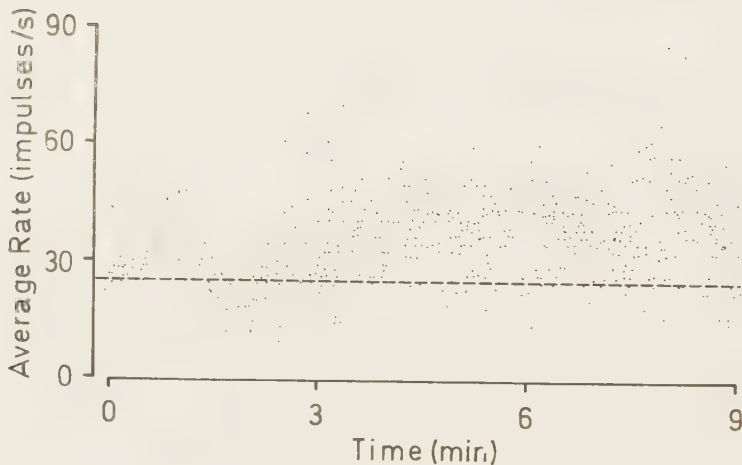


Abb. 17

Durchschnittliche Entladungszahl eines Motoneurons in einem sich frei bewegenden, intaktem Tier. Die Entladungsrate wurde indirekt durch Ableitung von Öffnermuskel-EMGs mit einer 100 μ s Kupferdrahtelektrode gemessen. Der Öffner erhält nur ein erregendes Axon, so daß die Muskel-EMGs exakt mit der AP-Aktivität im Motoneuron übereinstimmen. Jeder Punkt gibt die durchschnittliche Zahl von AP während 500 ms wieder. Die gestrichelte Linie markiert eine Impulsrate von 25 Hz.

D. DISKUSSION

I. Postsynaptische Antwort auf langdauernde repetitive Reizung

Als Antwort auf langdauernde repetitive Reizung kann man folgende Phänomene in diesem System beobachten. Auf eine anfängliche Zunahme der EPSP-Amplitude folgt eine Depressionsphase, die bei weiterer Reizung oft in einen periodischen Ausfall einzelner EPSPs übergeht. Die Bahnung kurz nach Reizbeginn ist vermutlich bereits überlagert von der sich viel langsamer entwickelnden Depression (Curtis and Eccles, 1960; Hubbard 1963). Diese Langzeitbahnung - wie bereits von Shermann and Atwood (1971) vom *Procambarus clarkii* berichtet - wurde in unveröffentlichten Experimenten einige Zeit vor dieser Studie untersucht. Die Ergebnisse stimmen dabei weitgehend mit denen von Zucker (1973) überein.

Die postsynaptische Membran bleibt anscheinend unbeeinflusst von fortgesetzter repetitiver Reizung, da sich weder der Eingangswiderstand der Membran noch das Ruhepotential signifikant änderte. Eine Desensitisierung der Rezeptoren durch den Überträgerstoff kann man ebenfalls ausschließen, da die Amplitude der spontan freigesetzten Quanten bei allen Experimenten konstant blieb. So scheint es sicher, daß die beobachteten Änderungen präsynaptischen Ursprungs sind.

II. Praesynaptische Antworten auf langdauernde repetitive Reizung

Axonleitungsblock im Gelenk

Repetitive langdauernde Reizung des erregenden Axons des Öffner- und Streckermuskels des Flußkrebsses führt zu einem periodischen Block in der Impulsfortleitung an einer Stelle mit besonders dichtem Bindegewebe im Gelenk zwischen Pro- und Carpopoditen. Beobachtungen mit dem Lichtmikroskop haben dabei gezeigt, daß an dieser Stelle keine Axonverzweigungen (Grossman, Spira and Parnas, 1973; Tauc and Hughes, 1963; van Essen, 1973) oder wesentliche Änderungen des Axonquerschnitts vorla-

gen, (Mellon and Kaars, 1974; Yarom, Spira and Parnas, 1973), also morphologische Veränderungen, von denen bekannt ist, daß sie einen Leitungsblock verursachen. So ist es naheliegend, das an dieser Stelle besonders dichte Bindegewebe für den Ausfall in der Impulsfortleitung verantwortlich zu machen. Die Tatsache, daß bei Tieren ohne dieses dichte Bindegewebe keine Leitungsblocks gefunden wurden, spricht ebenfalls für diese Deutung.

Eine extrazelluläre Anhäufung von Ionen infolge der verminderten Diffusion ist wahrscheinlich die Ursache des Leitungsblocks und steht auch in Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen. Ein guter Kandidat dafür wäre das K^+ , von dem schon wiederholt behauptet wurde, daß es sich während repetitiver Reizung in der Nervenendigungsgegend ansammelt. (Dudel, 1965a; Zucker, 1974; Frankenhäuser and Hodgkin, 1956; Parnas, 1972). Unzweifelhaft führt eine längerdauernde Reizung zu einem beträchtlichen K^+ -Anstieg und sollte sich dieses K^+ im extrazellulären Raum anhäufen, so müßte es zur Depolarisierung der Axonmembran kommen. Dies wiederum führte dann infolge einer Na^+ -Inaktivierung z. B. zu einem relativ refraktären Zustand. Andere mögliche Gründe für den Leitungsblock - z. B. Sauerstoffmangel (Krnjevic and Miledi, 1959) können ebenfalls nicht völlig ausgeschlossen werden, sondern erfordern weitere Untersuchungen.

Das abrupte periodische Auftreten dieses Blocks und die damit verbundene Reduzierung der Leitungsgeschwindigkeit sind eigentlich charakteristisch für einen Leitungsblock durch Änderungen in der Axongeometrie (vgl. Goldstein and Rall, 1974). Da diese Phänomene auch bei Sauerstoffmangel (vgl. Krnjevic and Miledi, 1959) und ohne sichtbare anatomische Veränderung auftreten, kann man nicht behaupten, daß die Axongeometrie zwangsläufig die Ursache für den Leitungsblock ist.

Ob der beobachtete Block tatsächlich im intakten Tier zu finden ist, läßt sich schwer entscheiden. Es scheint, als sei die Impulsrate des Motoneurons im lebenden Tier genügend hoch, um einen Leitungsblock auszulösen, aber das unregelmäßige Entladungsmuster mag dieses Ergebnis etwas verfälschen. Es wurde deshalb versucht, ein Experiment durchzuführen, in dem gleichzeitig EMGs vom Strecker- und Öffnermuskel abgeleitet wurden in der Hoffnung, zwischen den beiden eine unterschiedliche Aktivitätsrate zu finden. Die technischen Schwierigkeiten, 2 Elektroden gleichzeitig für eine längere Zeit unverändert in beiden Muskeln zu halten, waren jedoch zu groß, um eindeutige Ergebnisse zu bekommen.

Axonleitungsblock in der Peripherie

Der Ausfall von Nervenimpulsen in einigen Endverzweigungen eines Axons kommt - wie gesagt - durch einen Leitungsblock an peripheren Aufzweigungsstellen des Axons zustande. Sowohl vollständige wie periodische Blockierung wurde beobachtet. Die Zahl der betroffenen Endigungen hing von der Lage des Blockes ab, d. h. wenn bereits sehr zentrale Äste blockten, so war natürlich eine sehr viel größere Zahl von Endigungen betroffen als bei peripheren Blocks. Die Leitungsausfälle waren entlang des gesamten Axons zu finden und reduzierten die EPSP-Amplitude auf weniger als $1/3$ des Ausgangswertes. So leistet der Leitungsblock einen wesentlichen Beitrag zur neuromuskulären Depression im Krebs, speziell wenn man die große Zahl von axonalen Verzweigungen (150 - 200) in der Nervenendigungsgegend des erregenden Axons des Krebsöffnermuskels bedenkt (Lang, Atwood and Morin, 1972).

Ein periodischer Leitungsblock in der Nervenendigung trägt auf 2 Arten zur Depression bei: 1) die Zahl der Reizimpulse, die eine Überträgerstoffausschüttung auslösen, ist deutlich

reduziert; 2) die durchschnittliche Zahl von freigesetzten Überträgerstoffeinheiten - m - nimmt ab, da der Bahnungseffekt durch die verringerte Zahl von Impulsen kleiner wird. Dies geht auch aus einer Abnahme der Parameter p und n hervor. Speziell die Abnahme in p spricht für eine Verringerung der Bahnung, da Zunahme der Bahnung immer einen Anstieg von p zur Folge hat (Wernig, 1972; Zucker, 1973).

Eine Abnahme in n jedoch bedeutet, daß weniger Freisetzungstellen während des periodischen Blocks aktiv sind. Bei der Interpretation dieses Ergebnisses gibt es noch einige Unklarheiten. Als mögliche Lösungen könnten vorgeschlagen werden: 1) die Abnahme in n während des peripheren periodischen Leitungsblocks ist auf andere Komponenten der Depression zurückzuführen, die nichts mit dem Leitungsblock zu tun haben; 2) die Schwierigkeit, die peripheren Verzweigungen des Axons zu sehen, läßt einen nie sicher sein, daß nicht noch Axonleitungsblocks an einer Stelle, die peripher zur Ableitungselektrode liegt, auftreten und eine Reduzierung von n verursachen. Die zweite Erklärung wird stark durch die anatomischen Untersuchungen der Nervenendigungen unterstützt. Elektronenmikroskopische Bilder (Lang, Atwood and Morin, 1972) zeigen umfangreiche fächerförmige Verzweigungen in der äußersten Nervenendigungsregion des erregenden Axons des Krebsöffnermuskels. Ein abwechselndes Eindringen von Impulse in die feinen Verzweigungen der Endigungsgegend könnte dem allgemeinen Problem der Depression zugrundeliegen (vgl. Dudel and Kuffler, 1961b) ungeachtet, ob auf der Ableitung ein ENTP zu sehen ist oder nicht. Die fortlaufend ansteigende synaptische Verzögerung während der Entwicklung eines Blockzustandes mag ein Indiz sein für eine Reihe von Leitungsblocks in der Nervenendigungsgegend. Die Blocksituation weitete sich dann möglicherweise bei Fortdauer der Reizung nach zentral aus, entweder in diskreten Sprüngen von einer Aufzweigung zur anderen oder kontinuierlich.

Repetitive Reizung des erregenden Öffnerneurons führt zu einer leichten Depolarisation der Axonmembran (Dudel, 1965a), Zucker 1974b), vermutlich - wie im vorigen Kapitel genauer ausgeführt - auf Grund einer Anhäufung von extrazellulärem K^+ . Der Anstieg in der synaptischen Verzögerung und der Zeitverlauf der Erholung vom Leitungsblock sind übereinstimmend mit der Theorie, daß sich bestimmte Ionen, z. B. K^+ infolge begrenzter Diffusionsmöglichkeiten ansammeln. Eine sich anschließende teilweise Na-Inaktivierung (Grossmann, Spira and Parnas, 1973) würde eine Abnahme des AP verursachen, das somit den Lastwiderstand am Axonverzweigungspunkt nicht mehr überwinden könnte und damit geblockt wäre. Dieses Modell ist sehr einleuchtend, aber es gibt noch Alternativen. Ein interessanter Vorschlag wäre auch, daß die Depolarisation einen Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration verursacht (Baker, Hodgkin and Ridgway, 1971) über das Niveau, mit dem die Zelle gepuffert wird, hinaus. Übermäßig viel intracelluläres Calcium bewirkt einen Anstieg in der K^+ -Leitfähigkeit (vgl. Meech, 1974), was wiederum die Zelle in ein relativ stabiles Refraktärstadium bringt und das Ausmaß der Depolarisation ein wenig reduziert. Dieses relative Refraktärstadium summiert sich mit der Refraktärperiode nach einem Impuls und dies führt zu einem periodischen oder totalen Block in der Impulsfortleitung. Der Ionenkonzentrationseffekt sollte dort am größten sein, wo das Verhältnis Oberfläche/Volumen der Membran sehr groß ist. Deswegen wird der Block bevorzugt an Verzweigungsstellen auftreten, da dort der Durchmesser der Faser kleiner wird (d. h. das Verhältnis steigt an!) und zusätzlich noch der Sicherheitsfaktor für die Fortleitung niedriger ist. Alle gegenwärtigen Modelle sind spekulativ und bedürfen einer weiteren Untersuchung, um den dem Axonblock zugrundeliegenden Mechanismus zu klären.

III. Änderungen in der Statistik der Überträgerstofffreisetzung

Messungen der Zahl der durch einen Nervenimpuls freigesetzten Quanten zeigen, daß die Bahnung auf einem Anstieg in m beruht, der wiederum zurückzuführen ist auf eine Zunahme von p , der Freisetzungswahrscheinlichkeit, nicht aber von n . Dies stimmt mit ähnlichen Ergebnissen von Wernig (1972) und Zucker (1973) überein, steht aber im Gegensatz zu solchen von Maeno and Edwards (1969) und Magleby (1973).

Umgekehrt beinhaltet Depression einen Abfall von m , n und p . Auf der Basis eines außergewöhnlich guten Experiments kann man sagen, daß die Abnahme der Überträgerstofffreisetzung primär auf einer Abnahme von n beruht, p wird erst nach einigen Minuten fortgesetzter repetitiver Reizung kleiner. Ähnliches wurde bereits vom Frosch (Betz, 1970) und der Ratte (Christensen and Martin, 1970), Sacchi and Perri (1973) berichtet.

Eine Reduzierung in der Überträgerstoffausschüttung während fortgesetzter repetitiver Reizung könnte interpretiert werden als eine Erschöpfung des Überträgerstoffvorrates, der zur Freisetzung zur Verfügung steht. Gemäß der Binomialhypothese der Überträgerstofffreisetzung kann jedoch eine Abnahme in m erklärt werden in Form von n und p , die einer weiteren Definition bedürfen. In der vorliegenden Arbeit sind die Werte für n nicht größer als 4 - 5, deswegen kann vernünftigerweise n nicht die Zahl der zur Freisetzung zur Verfügung stehenden Quanten bedeuten. Statt dessen erscheint es naheliegender, n für die Zahl von synaptischen Freisetzungsstellen (vgl. Zucker, 1973a) zu halten oder für andere Details im Freisetzungsmechanismus. Eine Abnahme in n während der Depression mag also anzeigen, daß die Zahl der Membranöffnungen, durch die der Überträgerstoff freigesetzt wird, kleiner geworden ist, d.h. einige Öffnungen wurden inaktiviert. Die genaue Bedeutung von n und p kann zur Zeit ohne weitere Untersuchungen nicht exakt in physiologischen Begriffen interpretiert werden.

Spontan freigesetzter Überträgerstoff

Eine Erschöpfung des Überträgerstoffvorrats, der zur Ausschüttung zur Verfügung steht, kann ausgeschlossen werden, da die Zahl der spontan freigesetzten Quanten nicht abnimmt - im Gegenteil, häufig nimmt sie sogar während der Depression zu (vgl. del Castillo and Katz, (1954b)). Ungeachtet der Mechanismen, durch die durch Reizung hervorgerufene oder spontane Ausschüttung erfolgt, muß man für beide vermutlich annehmen, daß sie ihre Quanten aus demselben Vorrat entnehmen und somit auch, daß spontane und durch Reizung hervorgerufene Überträgerstoffausschüttung vom gleichen Mechanismus gesteuert werden. Deshalb ist aus der Beobachtung, daß es keine Abnahme in der Zahl und der Amplitude spontan freigesetzter Quanten gibt, zu schließen, daß Depression nicht beinhaltet 1) eine Erschöpfung des Überträgerstoffvorrates, der zur Ausschüttung zur Verfügung steht, oder 2) eine Änderung in den Mechanismen mittels derer Überträgerstoff zu den Freisetzungsstellen wandert, oder 3) irgendwelche Refraktärmechanismen, die allen Freisetzungsstellen gemeinsam sind (siehe unten). Daraus folgt, daß Depression auf einer Änderung irgendeiner Stufe der Überträgerstoffausschüttung beruht, die sich von der oben erwähnten unterscheidet, oder daß spontane und hervorgerufene Ausschüttung an verschiedenen Freisetzungsstellen stattfindet (Dennis and Miledi, 1974).

Die Intervalle zwischen spontan freigesetzten Quanten waren unter allen getesteten Bedingungen exponentiell verteilt, was vermuten läßt, daß die spontane Freisetzung ein zufälliger Prozeß ist. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Dudel and Kuffler (1961a), aber im Gegensatz zu Cohen, Kita and van der Kloot (1974). Letztere beobachteten, daß Quantenausschüttung stets in gehäufte Form auftritt. Dies wurde am vorliegenden Präparat nur unter unphysiologischen Bedingungen gesehen, wenn die synaptische Übertragung nach

langer Reizung Schädigungen zeigte oder wenn die Elektrode in die Zelle eindrang. Generell kann man sagen, daß bei einem Druck der Mikroelektrodenspitze auf die synaptische Struktur die spontane Quantenfreisetzung nicht mehr zufällig ist (vgl. Katz and Miledi, 1965).

IV. Andere Interpretationen der Depression

Das folgende Modell der Depression ist in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Als Antwort auf einen Nervenimpuls kann jede Freisetzungsstelle Überträgerstoff entlassen, muß dann aber mit einer charakteristischen 'Erholungs'-Zeit wieder aufgeladen werden; diese 'Erholungs'-Zeit muß nicht für jede Freisetzungsstelle gleich sein. Stellen, bei denen sie sehr lang ist - z. B. 30 min. - vermögen nur einmal zu antworten. Dies verursacht eine Abnahme in den Werten für n (oder p). Noch entsprechend der Theorie wäre es, wenn die 'Erholungs'-Zeiten von einigen Freisetzungsstellen mit zunehmender Reizdauer länger würden und zwar so lange, bis sie nicht mehr zur Übertragung von Transmitter beitragen können, obwohl noch genügend Überträgerstoff vorrätig ist. Sollte die 'Erholungs'-Zeit für eine Stelle tatsächlich variabel sein, dann sollten die Werte für p abfallen, (vgl. Vere-Jones, 1966; Zucker, 1973a). Unter diesen Bedingungen würde ein Abfall von beiden - n und p - darauf schließen lassen, daß einige Stellen nicht wieder aufgefüllt und so ohne Funktion wären. Ebenso, wenn p variabel wäre, so würden Änderungen in p auch Änderungen in den Abschätzungen von n verursachen. Solche Interaktionen in der Berechnung dieser beiden Parameter sollten genauer untersucht werden, bevor man eine endgültige Aussage macht.

Nervenendigungsdepolarisation

Eine Depolarisation der Nervenendigungsgegend während repetitiver Reizung könnte ebenfalls eine Depression an der neuromuskulären Endigung bewirken. In Übereinstimmung damit stünde auch der Anstieg der Zahl spontan ausgeschütteter Quanten während der Depression. Dies wurde auch am Frosch beobachtet (del Castillo and Katz, 1954b). Obwohl eine Depolarisation der Nervenendigungen die spontane Quantenfreisetzung vergrößert (Dudel, 1971; Cooke and Quastel, 1973; Zucker 1974a), kann sie eine Abnahme der Überträgerstoffausschüttung nach einem Nervenimpuls verursachen (Hubbard and Willis, 1968). Die letztere Wirkung scheint auf einer Änderung in der Amplitude des AP, das in die Nervenendigung vordringt, zu beruhen (Dudel, 1965a, 1971, 1973; Lang and Atwood, 1973; Zucker 1974a) und vermutlich auch auf einem Leitungsausfall in den feinsten Endigungen. Die Konstanz der ENTP-Amplitude während der Depression steht im Widerspruch zu früheren Ergebnissen am Flußkrebs (Dudel, 1965a), aber in Übereinstimmung mit neueren Veröffentlichungen (Ortiz, 1972; Zucker, 1974a). Die Signifikanz einiger dieser Ergebnisse am Krebs ist schwierig zu beurteilen, da es nicht möglich ist zu sehen, wie dicht die Elektrodenspitze an der tatsächlichen synaptischen Übertragungsstelle liegt. Eine konstante Größe des AP ist deswegen keine Garantie, daß es tatsächlich bis zur Freisetzungsstelle unverändert bleibt.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Depression der synaptischen Übertragung und Axonleitungsblocks wurden während langdauernder repetitiver Reizung am Öffnermuskel des Flußkrebsschreitbeines untersucht.
2. Erregende postsynaptische Potentiale zeigten anfänglich eine Amplitudenzunahme; nach etwa 4 000 Reizpulsen aber fiel die Amplitude stark ab. Diese Depression war ihrem Ursprung nach präsynaptisch.
3. Oft traten nach längerer Reizdauer an Verzweigungsstellen entlang des ganzen Axons, bevorzugt aber in den Nervenendigungen, Leitungsblocks auf. Sie bewirkten eine Depression der postsynaptischen Antwort.
4. Die Statistik der Überträgerstofffreisetzung während repetitiver Reizung wurde mit extrazellulären Ableitmethoden untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Freisetzung mit der Binomialstatistik zu beschreiben ist, und die Depression auf einer Abnahme von m , n und p beruht.
5. Die Zahl der spontan freigesetzten Quanten nahm während der Depression zu. Dies spricht gegen eine Erschöpfung des Überträgerstoffvorrates.
6. In Präparaten mit besonders dichtem Bindegewebe trat nach repetitiver Reizung ein periodischer Axonleitungsblock im Hauptast auf.
7. Häufig fehlte nach längerer Reizung jede zweite postsynaptische Antwort. Dies wurde als 1:1-Blockzustand bezeichnet. Als Ausgangspunkt des AP-Ausfalls konnte eine Stelle im Gelenk zwischen Pro- und Carpopoditen lokalisiert werden, an der das Axon durch besonders dichtes Bindegewebe laufen mußte.

8. Vermutlich entstand der Leitungsblock durch eine extrazelluläre K^+ -Anhäufung infolge begrenzter Abdiffusionsmöglichkeiten wegen des dichten Bindegewebes.
9. Es wurde gezeigt, daß die Entladungsrate des erregenden Motoneuros im sich frei bewegenden Tier ähnlich hoch ist, wie unter den experimentellen Bedingungen, bei denen ein Leitungsblock beobachtet wurde.

Literaturverzeichnis

Atwood, H. L.:

An attempt to account for the diversity of crustacean muscles.

Amer. Zool. 13, 357 (1973)

Baker, P. F., A. L. Hodgkin and E. B. Ridgway:

Depolarization and Ca entry in squid giant axons.

J. Physiol. 218, 709 (1971)

Betz, W. J.:

Depression of transmitter release at the neuromuscular junction of the frog.

J. Physiol. (Lond.) 206, 629 (1970)

Bittner, G. D.:

Differentiation of nerve terminals in the crayfish opener muscle and its functional significance.

J. Gen. Physiol. 51, 731 (1968)

Bittner, G. D. and J. Harrison:

A reconsideration of the poisson hypothesis for transmitter release at the crayfish neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 206, 1 (1970)

Bittner, G. D. and D. Kennedy:

Quantitative aspects of transmitter release.

J. cell. Biol. 47, 585 (1970)

Bruner, J. and J. Kehoe:

Long-term decrements in the efficacy of synaptic transmission in molluscs and crustaceans.

In: Short-term changes in Neural Activity and Behaviour, ed. Horn, G. and Hinde, R. A.,

pp 323 - 359. Cambridge: Cambridge University Press (1970)

Christensen, B. N. and A. R. Martin:

Estimates of probability of transmitter release at the mammalian neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 210, 933 (1970)

Cohen, I., H. Kita and W. van der Kloot:

Stochastic properties of spontaneous transmitter release at the crayfish neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 236, 363 (1974)

Cooke, J. D. and D. M. J. Quastel:

Cumulative and persistent effects of nerve terminal depolarization on transmitter release.
J. Physiol. (Lond.) 228, 407 (1973)

Curtis, D. R. and J. C. Eccles:

Synaptic action during and after repetitive stimulation.
J. Physiol. (Lond.) 150, 374 (1960)

Del Castillo, J. and B. Katz:

Quantal components of the end-plate potential.
J. Physiol. (Lond.) 124, 560 (1954 a)

Del Castillo, J. and B. Katz:

Statistical factors involved in neuromuscular facilitation and depression.
J. Physiol. (Lond.) 124, 574 (1954 b)

Dennis, M. J. and R. Miledi:

Characteristics of transmitter release at regenerating frog neuromuscular junctions.
J. Physiol. (Lond.) 239, 571 (1974)

Dudel, J.:

Potential changes in the crayfish motor nerve terminal during repetitive stimulation.
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 282, 323 (1965a)

Dudel J.:

The mechanism of presynaptic inhibition at the crayfish neuromuscular junction.
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 284, 66, (1965b)

Dudel, J.:

The effect of polarizing current on action potential and transmitter release in crayfish motor nerve terminals.
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 324, 227 (1971)

Dudel, J.:

Recording of action potentials and polarization of a single crayfish motor axon through a sucrose-gap capillary suction electrode.
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 338, 187 (1973)

Dudel, J. and S.W. Kuffler:

The quantal nature of transmission and spontaneous miniature potentials at the crayfish neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 155, 514 (1961a)

Dudel, J. and S.W. Kuffler:

Mechanism of facilitation at the crayfish neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 155, 530 (1961b)

Dudel, J. and S.W. Kuffler:

Presynaptic inhibition at the crayfish neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 155, 543 (1961c)

Elmqvist, D. and D.M.J. Quastel:

A quantitative study of end-plate potentials in isolated human muscle.

J. Physiol. (Lond.) 178, 505 (1965)

Fatt, P. and B. Katz:

Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings.

J. Physiol. (Lond.) 117, 109 (1952)

Fatt, P. and B. Katz:

Distributed end-plate potentials of crustacean muscle fibers.

J. exp. Biol. 30, 433 (1953)

Frankenhäuser, B. and A.L. Hodgkin:

The after-effects of impulses in the giant nerve fibers of *Loligo*.

J. Physiol. (Lond.) 131, 341 (1956)

Goldstein, S.S. and W. Rall:

Changes of action potential shape and velocity for changing core conductor geometry.

Biophys. J. 14, 731 (1974)

Grossman, Y., M. E. Spira and I. Parnas:

Differential flow of information into branches of a single axon.

Brain Res. 64, 379 (1973)

Hatt, H. and D.O.Smith:

Axon conduction block: Differential channeling of nerve impulses in the crayfish
Brain Res. 87, 85 (1975)

Hubbard, J.I.:

Repetitive stimulation at the mammalian neuromuscular junction, and the mobilization of transmitter
J. Physiol. (Lond.) 169, 641 (1963)

Hubbard, J.I. and W.D. Willis:

Reduction of transmitter output by depolarization.
Nature 193, 1294 (1962)

Johnson, E.W. and A. Wernig:

The binomial nature of transmitter release at the crayfish neuromuscular junction.
J. Physiol. (Lond.) 218, 757 (1971)

Katz, B. and R. Miledi:

Propagation of electric activity in motor nerve terminals.
Proc. R. Soc. B 161, 453 (1965)

Khodorov, B.I., Ye.N.Timin, S.Ya. Vilenkin and F.B.Gul'ko:

Theoretical analysis of the mechanisms of conduction of a nerve pulse over an inhomogeneous axon.
1. Conduction through a portion with increased diameter.
Biofizika 14, 304 (1969)

Krnjević, K. and R. Miledi:

Presynaptic failure of neuromuscular propagation in rats.
J. Physiol. (Lond.) 149, 1 (1959)

Kuno, M.:

Mechanism of facilitation and depression of the excitatory synaptic potential in spinal motoneurons.
J. Physiol. (Lond.) 175, 100 (1964)

Lang, F. and H.L. Atwood:

Crustacean neuromuscular mechanisms: Functional morphology of nerve terminals and the mechanism of facilitation.
Amer. Zool. 13, 337 (1973)

Lang, F., H.L. Atwood and W.A. Morin:

Innervation and vascular supply of the crayfish opener muscle: scanning and transmission electron microscopy.

Z. Zellforsch. 127, 189 (1972)

Lundsberg, A. and H. Quilisch:

Presynaptic potentiation and depression of a neuromuscular transmission in frog and rat.

Acta physiol. scand. 30, suppl. III: 111 (1953)

Maeno, T. and C. Edwards:

Neuromuscular facilitation with low-frequency stimulation and effects of some drugs.

J. Neurophysiol. 32, 785, (1969)

Magleby, K.L.:

The effect of tetanic and post-tetanic potentiation on facilitation of transmitter release at the frog neuromuscular junction.

J. Physiol. (Lond.) 234, 353 (1973)

Mallart, A. and A.R. Martin:

An analysis of facilitation of transmitter release at the neuromuscular junction of the frog.

J. Physiol. (Lond.) 193, 679 (1967)

McLachlan, E.M.:

Changes in statistical release parameters during prolonged stimulation of preganglionic nerve terminals.

J. Physiol. (Lond.) 253, 477 (1975)

Meech, R.W.:

The sensitivity of *Hirix aspersa* neurons to injected calcium ions.

J. Physiol. (Lond.) 237, 259 (1974)

Mellon, De. F. and C. Kears:

Role of regional cellular geometry in conduction of excitation along a sensory neuron.

J. Neurophysiol. 37, 1228 (1974)

Ortiz, C. L.:

Crayfish neuromuscular junction facilitation with constant nerve terminal potential.

Experientia 28, 1035 (1972)

Otsuka, M., M. Endo and Y. Nonomura:

Presynaptic nature of neuromuscular depression
Jap. J. Physiol. 12, 573 (1962)

Parnas, I.:

Differential block at high frequency of branches
of a single axon innervating two muscles.
J. Neurophysiol. 35, 903 (1972)

Sacchi, O. and V. Perri:

Quantal mechanism of transmitter release during
progressive depletion of the presynaptic stores
at a ganglionic synapse.
J. Gen. Physiol. 61, 342 (1973)

Shermann, R.G. and H.L. Atwood:

Synaptic facilitation: Long-term neuromuscular
facilitation in crustaceans.
Science 171, 1248 (1971)

Tauc, L. and G.M. Hughes:

Modes of initiation and propagation of spikes
in the branching axon of molluscan central neurons.
J. Gen. Physiol. 46, 533 (1963)

Thies, R.:

Neuromuscular depression and the apparent depletion
of transmitter in mammalian muscle.
J. Neurophysiol. 28, 427 (1965)

Van Essen, D.C.:

The contribution of membrane hyperpolarization
to adaptation and conduction block in sensory
neurons of the leech.
J. Physiol. (Lond.) 230, 509 (1973)

Vere-Jones, D.:

Simple stochastic models for the release of quanta
of transmitter from a nerve terminal.
Aust. J. statist. 8, 53 (1966)

Wall, P. D., J.Y.Lettvin, W.S.McCulloch and W.H.Pitts:

Impulse transmitting ability of an afferent system
of nerve fibers.
In C.Cherry (Ed.), Information theory,
Third London Symposium Butterworth, London:
pp. 329-344 (1965)

Wernig, A.:

Changes in statistical parameters during facilitation
at the crayfish neuromuscular junction.
J. Physiol. (Lond.) 226, 751 (1972)

Yarom, Y., M.E.Spira and I.Parnas

Blockade of spike propagation in the giant fiber
system of the cockroach following high
frequency stimulation.
Israel J. Med. Sci. 9, 680 (1973)

Zucker, R.S.:

Changes in the statistics of transmitter release
during facilitation.
J. Physiol. (Lond.) 229, 787 (1973)

Zucker R.S.:

Crayfish neuromuscular facilitation activated by
constant presynaptic action potentials and depolarizing
pulses.
J. Physiol. (Lond.) 241, 69 (1974a)

Zucker, R.S.:

Excitability changes in crayfish motor neurone
terminals.
J. Physiol. (Lond.) 241, 111 (1974b)

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom September 1972 bis März 1976 am Physiologischen Institut der TU München unter Anleitung von Prof. Dr. Dudel durchgeführt.

Meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. J. Dudel,

bin ich für die Themenstellung, die vielen Ratschläge und wertvollen Diskussionen sowie die finanzielle Hilfe zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Autrum danke ich, daß er es mir ermöglicht hat, außerhalb des Fachbereiches diese Arbeit zu erstellen.

An dieser Stelle möchte ich ferner alle Mitarbeiter des Instituts erwähnen, die mir jederzeit bereitwillig mit Rat und Tat zur Seite standen.

Mein Dank gilt auch

Herrn Dr. D. O. Smith,

der durch Hilfestellung während der Experimente und sein Interesse an der Arbeit sehr zum Gelingen beigetragen hat.

Besonderen Dank sage ich meinen lieben Eltern für ihre Geduld und ihre unermüdliche Hilfe während der Jahre der Promotion.

Lebenslauf

Gestorben am 8. Juli 1947 in Illertissen als Sohn
des Dipl.-Braumeisters Hanns Hatt und
seiner Ehefrau Sieglinde, geb. Jegg

Volksschule 1953 bis 1957 in Illertissen

Höhere Schule 1957 bis 1963 am Humanistischen Gymnasium
St. Stephan in Augsburg
1963 bis 1965 am Humanistischen Gymnasium
in Dillingen (Donau)
1965 bis 1967 am Nymphenburger Gymnasium
in München -
dort Abitur 1967

Universität Immatrikuliert an der
Ludwig-Maximilian-Universität in München
1967
Studium der Biologie und Chemie -
Staatsexamen 1972

Doktorarbeit Beginn der Doktorarbeit 1972
am Physiologischen Institut der TU



